

# 最終報告書

K - 1 5 5 2 のコイによる濃縮度試験

( 試験番号： 0 1 7 3 C )

平成 1 4 年 1 月 3 0 日

保土谷コンクリートラボ  
株式会社

# 陳 述 書

保土谷コントラクトラボ株式会社

試験委託者 : 財団法人化学物質評価研究機構

試験番号 : 0173C

試験表題 : K-1552のコイによる濃縮度試験

上記試験は、『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第4条に規定する試験施設について』（環保業第39号、業発第229号、59基局第85号：昭和59年3月31日、平成12年3月1日改正）に定める『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第4条に規定する試験施設に関する基準』に従って実施したものです。

平成 14 年 / 月 30 日

試験責任者

## &lt;濃縮度試験&gt; 信頼性保証報告書

2002 年 1 月 30 日

運営管理者・試験責任者

殿

信頼性保証業務担当者

信頼性保証業務責任者

試験番号： 0173C

試験表題： K-1552のコイによる濃縮度試験

上記の試験は社内GLP基準に基づき信頼性保証業務担当者が監査・査察を実施した。

監査・査察を実施した日付け並びに運営管理者及び試験責任者に報告を行った日付けは下記のとおりである。

また、本最終報告書は試験の方法が正しく記載されており、内容が試験計画及び標準操作手順書に従い、

かつ、試験結果は生データを正しく反映していることを保証する。

監査・査察実施日及び報告日

監査・査察項目	監査・査察実施日	監査・査察結果報告日	
		運営管理者	試験責任者
1. 試験計画の監査	2001年10月29日	2001年10月29日	2001年10月29日
2. 試験施設の査察	2001年10月30日	2001年10月30日	2001年10月30日
3. 供試魚に関する監査・査察			
(1) ヒメダカの順化・適否	2001年10月30日	2001年10月30日	2001年10月30日
(2) コイの順化・適否	2001年11月16日	2001年11月16日	2001年11月16日
4. 試験の実施に関する監査・査察			
(1) 安定性試験	2001年12月21日	2001年12月21日	2001年12月21日
(2) 急性毒性試験	2001年10月30日 2001年11月7日	2001年10月30日 2001年11月7日	2001年10月30日 2001年11月7日
(3) 脂質分析	2001年12月17日 2001年12月26日	2001年12月17日 2001年12月26日	2001年12月17日 2001年12月26日
(4) 濃縮度試験	2001年11月16日 2001年11月20日 2001年12月26日	2001年11月16日 2001年11月20日 2001年12月26日	2001年11月16日 2001年11月20日 2001年12月26日
5. 最終報告書の監査	2002年1月30日	2002年1月30日	2002年1月30日

## 要 約

### 1. 試験番号、試験表題

0173C、K-1552のコイによる濃縮度試験

### 2. 試験条件

#### 2.1 急性毒性試験

- (1) 供 試 魚 : ヒメダカ
- (2) ばく露期間 : 96時間
- (3) ばく露方法 : 半止水式 (24時間毎に換水)

#### 2.2 濃縮度試験

- (1) 供 試 魚 : コイ
- (2) 試 験 濃 度 : 第1濃度区 0.050 mg/L  
第2濃度区 0.0050 mg/L
- (3) ばく露期間 : 28日間
- (4) ばく露方法 : 連続流水式
- (5) 分 析 方 法 : 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

### 3. 試験結果

- (1) 被験物質の96時間LC50値 : 24 mg/L
- (2) 濃縮倍率 : 第1濃度区 574倍  
(定常状態) 第2濃度区 658倍

### 4. 被験物質の安定性

被験物質は保管条件下及び試験条件下で安定であることを確認した。

目 次

	ページ
陳述書	2
信頼性保証報告書	3
要 約	4
目 次	5
表及び図の内容	6
1 . 試験番号、試験表題	7
2 . 試験目的	7
3 . 試験方法	7
4 . GLP の適合	7
5 . 試験委託者	7
6 . 試験施設	7
7 . 試験期間	7
8 . 試験関係者	8
9 . 最終報告書の作成及び承認	8
1 0 . 被験物質	9
1 1 . 急性毒性試験	1 0
1 2 . 濃縮度試験の実施	1 3
1 3 . 試験結果	2 0
1 4 . 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	2 0
1 5 . 結果の考察及び結論	2 1
1 6 . 試資料の保管	2 1
1 7 . 備 考	2 2
表及び図	2 3
別添資料	

( 試験番号 : 0.1.7.3.C )

1. 試験番号、試験表題

0173C、K-1552のコイによる濃縮度試験

2. 試験目的

K-1552の魚類における濃縮性の程度について知見を得る。

3. 試験方法

『新規化学物質に係る試験の方法について』（環保業第5号、薬発第615号、49基局第392号：昭和49年7月13日、平成10年10月8日改正）に規定する『魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験』に準拠した。

4. GLPの適合

『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第4条に規定する試験施設について』（環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号 昭和59年3月31日、平成12年3月1日改正）に定める『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第4条に規定する試験施設に関する基準』に適合して実施した。

5. 試験委託者

名称 : 財団法人化学物質評価研究機構  
所在地 : (〒112-0004) 東京都文京区後楽一丁目4番25号  
電話番号 : 03-5804-6134

6. 試験施設

名称 : 保土谷コントラクトラボ株式会社  
所在地 : (〒305-0841) 茨城県つくば市御幸が丘45番地  
電話番号 : 0298-58-6884  
運営管理者 : XXXXXXXXXX

7. 試験期間

(1) 試験開始日 : 2001年 10月 29日  
(2) 実験(ばく露)開始日 : 2001年 11月 16日  
(3) 実験(ばく露)終了日 : 2001年 12月 14日  
(4) 試験終了日 : 2002年 1月 30日

( 試験番号 : ...0.1.7.3.C... )

8. 試験関係者

試験責任者 : 試験部 第1分析グループ [REDACTED]

試験担当者 : 試験部 第1分析グループ [REDACTED]  
業務分担 試験全般の実施 (魚体分析等)

[REDACTED]  
業務分担 試験全般の実施 (試験水分析等)

[REDACTED]  
業務分担 試験全般の補助

[REDACTED]  
業務分担 試験全般の補助

[REDACTED]  
業務分担 試験全般の補助

[REDACTED]  
業務分担 試験全般の補助

試資料保管 : ラボ長  
責任者 [REDACTED]

9. 最終報告書の作成及び承認

作成 : 2002年 1月30日 作成者 [REDACTED]

承認 : 2002年 / 月 30日 試験責任者 [REDACTED]

( 試験番号 : 0173C )

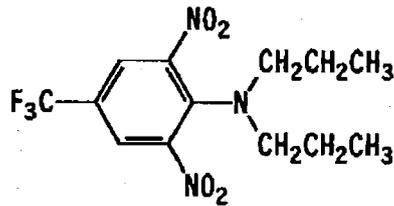
10. 被験物質

10.1 名称\*1: 2,6-ジニトロ-N,N-ジプロピル-4-(トリフルオロメチル)アニリン

10.2 識別符号\*1: K-1552

10.3 構造式、分子式、分子量\*1

構造式 :



分子式 : C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

分子量 : 335.28

10.4 純度\*1

96.3 % (w/w)

10.5 提供者及びロット番号

(1) 提供者 : 財団法人化学物質評価研究機構

(2) ロット番号\*1: XXXXXXXXXX

\*1試験委託者提供資料による。

10.6 被験物質の同定

同一ロットの被験物質について、既の実施している試験  
(試験番号: 0172D) において確認しているため、本試験では省略した。  
(参考資料-2参照)

10.7 物理化学性状

(1) 外観等 : 橙色固体

## 10.8 安定性試験

### (1) 保管条件下

保管条件： 被験物質取扱い室の保管庫内（室温）  
安定性： 試験開始直後及び実験終了後に被験物質のIRスペクトルを測定した結果、変化は認められなかった。（図-3参照）  
従って、被験物質は保管条件下で安定であることが確認された。

### (2) 試験条件下

実験（ばく露）開始前に予備検討を行い、試験条件下で安定であることを確認した。

## 11. 急性毒性試験

### 11.1 試験方法

『工場排水試験方法』の魚類による急性毒性試験（JIS K 0102-1998の71.）に準拠して実施した。

### 11.2 供試魚

- (1) 魚 種： ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- (2) 供給源： 土浦金魚養殖場  
茨城県土浦市蓮河原町3786
- (3) ロット番号： 0108211
- (4) 蓄養条件： 魚の放泳時に目視観察をして異常のあるものを除去し、蓄養槽で薬浴（薬剤名：塩化ナトリウム、濃度：10g/L、日数：2日間、温度：25℃）後、止水状態（循環式ろ過装置使用）で62日間飼育した。
- (5) 順化条件： 蓄養後、目視観察をして異常のあるものを除去し、必要尾数を順化槽へ移した。その後、流水状態で7日間飼育した。
- (6) 体 重： 平均 0.3g
- (7) 全 長： 平均 3.0cm (2.7~3.3cm)

### 11.3 試験用水（希釈水）

- (1) 種 類： 水道水をPFフィルターでろ過して浮遊物を除去した後、活性炭ろ過器を通して脱塩素し、更にPFフィルターでろ過して流出した水を使用した。
- (2) 水質確認： 1年に1回以上、全硬度、浮遊物質、pH、全有機炭素、化学的酸素要求量、アンモニア態窒素及び重金属等を測定又は分析した。また、半年に1回以上、残留塩素濃度を測定した。測定又は分析値は『水道法に基づく水質基準』（平成4年12月21日改正 厚生省令第69号）又は『水産用水基準』（社）日本水産資源保護協会 昭和58年3月』に記載されている値の範囲内であることを確認した。（参考資料-1参照）

( 試験番号 : 0.1.7.3.C )

#### 11.4 試験条件

- (1) 試験水槽 : 16 L 容円型ステンレス製水槽  
(2) 試験水量 : 10 L / 濃度区  
(3) 供試魚数 : 10 尾 / 濃度区  
(4) 試験温度 : 25 ± 2 °C  
(5) 溶存酸素濃度 :  
ばく露開始時 8.0 ~ 8.1 mg/L  
ばく露終了時 5.8 ~ 7.4 mg/L  
試験水交換直前 (24時間後) 5.5 ~ 6.8 mg/L  
試験水交換直後 (24時間後) 8.0 mg/L  
試験水交換直前 (48時間後) 5.5 ~ 6.7 mg/L  
試験水交換直後 (48時間後) 7.9 ~ 8.1 mg/L  
試験水交換直前 (72時間後) 5.7 ~ 7.1 mg/L  
試験水交換直後 (72時間後) 7.9 ~ 8.0 mg/L  
(6) pH :  
ばく露開始時 7.7 ~ 7.8  
ばく露終了時 7.5 ~ 7.6  
試験水交換直前 (24時間後) 7.5 ~ 7.6  
試験水交換直後 (24時間後) 7.6  
試験水交換直前 (48時間後) 7.5 ~ 7.7  
試験水交換直後 (48時間後) 7.6  
試験水交換直前 (72時間後) 7.5 ~ 7.6  
試験水交換直後 (72時間後) 7.5 ~ 7.6  
(7) ばく露期間 : 96 時間  
(8) ばく露方法 : 半止水式 (24 時間毎に換水)  
(9) 試験実施場所 : B-205A (急性毒性試験室)

#### 11.5 試験水の調製

被験物質にアセトン (30 ml) 及び分散剤 (HCO-40、30 g) を加えて混合溶解した後に、11.3記載の試験用水で希釈して試験液 (10 L) とした。

同時に、コントロール区として、分散剤 (HCO-40、30 g) をアセトン (30 ml) に溶解した後に、11.3記載の試験用水で希釈して被験物質を含まない試験液 (10 L) とした。

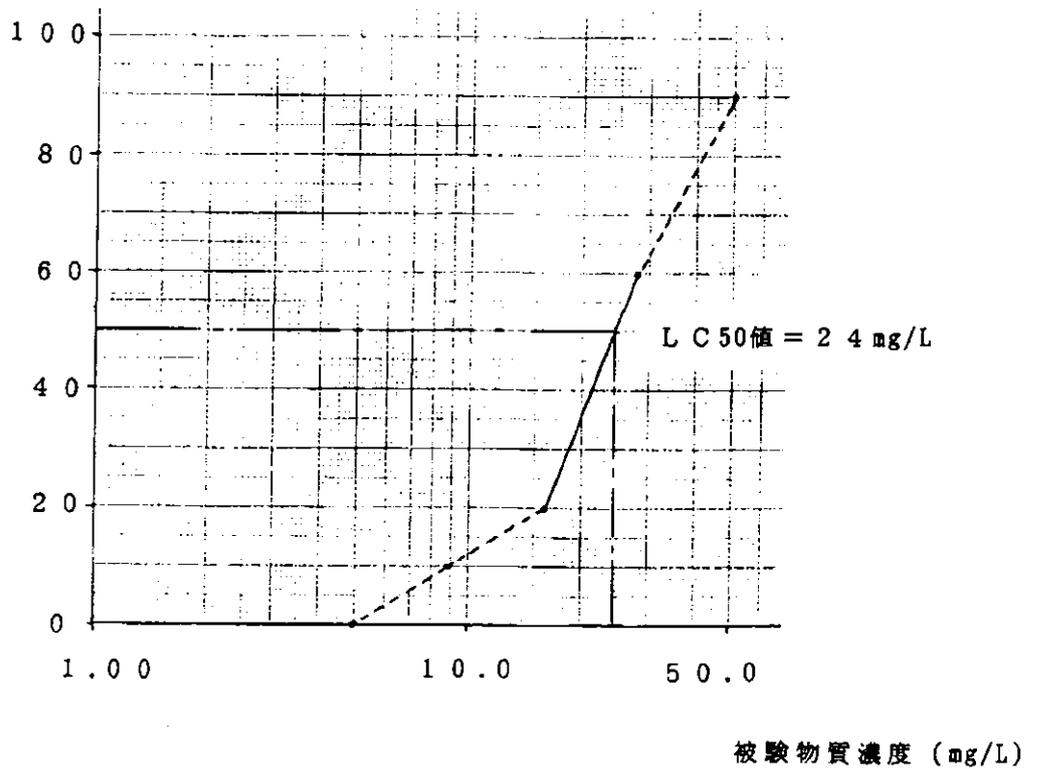
#### 11.6 試験の実施

試験実施日 : 2001年10月29日 ~ 2001年11月 2日

11.7 試験結果

被験物質濃度 (mg/L)	供試魚数 試験水量	死亡率 (%)			
		24時間	48時間	72時間	96時間
50	10尾/10L	60	70	70	90
28	10尾/10L	20	30	40	60
16	10尾/10L	0	0	0	20
8.9	10尾/10L	0	0	0	10
5.0	10尾/10L	0	0	0	0
コントロール	10尾/10L	0	0	0	0

死亡率 (%)



被験物質の96時間LC50値は24 mg/Lであった。

## 12. 濃縮度試験の実施

### 12.1 供試魚

- (1) 魚 種 : コイ (Cyprinus carpio)
- (2) 供給源 : 有限会社 山野水産  
茨城県新治郡霞ヶ浦町田伏 273-2
- (3) ロット番号 : 010727c
- (4) 年 齢 : 当歳魚
- (5) 蓄養条件 : 蓄養槽への魚の放泳時に目視観察をして異常のあるものを除去し、止水状態 (循環式ろ過装置使用) で91日間飼育した。  
この間、蓄養開始直後に薬浴 (薬剤名 : グリーンFゴールド、濃度 : 26.7 mg/L、日数 : 3日間、温度 : 25℃) を実施した。
- (6) 順化条件 : 蓄養後、目視観察をして異常のあるものを除去し、必要尾数を順化槽へ移した。  
その後、殺菌消毒した後、流水状態で17日間飼育した。  
順化終了日 : 2001年 11月 16日
- (7) 全 長 : 平均 8.2 cm (ばく露開始前)
- (8) 体 重 : 平均 7.1 g (ばく露開始前)  
最小値が最大値の2/3以上であることを確認した。
- (9) 給 餌 : コイ用配合飼料 [日本農産工業(株)製 : 粗タンパク 39.0%以上、粗脂肪 3.0%以上] に養殖水産動物用油脂 [理研フィールドオイルΩ : 理研ビタミン(株)製] を5% (w/w) 添加したものを供試魚体重の約1~2%程度に相当する量を1日に2~3回に分けて給餌した。  
ただし、供試魚の採取の10時間以内は給餌を止めた。
- (10) 脂質分析 : ばく露開始2日間前に順化槽より、ばく露終了3日間後にコントロール水槽より供試魚 (各5尾) をそれぞれ採取して、脂質含量を測定した。測定は、「E.G. Bligh and W.J. Dyer」の方法に準じて行った。  
その結果、ばく露開始2日間前及びばく露終了3日間後の脂質含量はそれぞれ3.7% (w/w、平均) 及び3.2% (w/w、平均) であった。

### 12.2 試験用水 (希釈水)

11.3に同じ。

### 12.3 試験及び環境条件

- (1) 試験水の供給方法 : 当ラボ組立の流水式濃縮度試験装置 (第4系列) を用いた。
- (2) 試験水槽 : 100 L 容ガラス製水槽 (3個) を使用した。
- (3) 試験水量 : 1000 ml/分 (原液流量 : 6.0 ml/時間)
- (4) 試験温度 : 25 ± 2 °C
- (5) 照光時間 : 16時間/日 (市販の蛍光灯)
- (6) 溶存酸素濃度 : 第1濃度区 7.1~7.7 mg/L (図-2参照)  
第2濃度区 7.1~7.8 mg/L (図-2参照)  
コントロール区 7.8~8.1 mg/L (図-2参照)
- (7) 供試魚数 : 第1及び第2濃度区 35尾 (ばく露開始時)  
コントロール区 10尾 (ばく露開始時)
- (8) ばく露条件 : 試験水中の被験物質濃度が試験濃度に達したことを確認した後、供試魚を各試験水槽に供試した。
- (9) ばく露期間 : 28日間
- (10) 実施場所 : B-204 (濃縮度試験室)

### 12.4 原液調製法

- (1) 第1濃度区 : 被験物質 (1.0 g : 純度換算値) 及び分散剤 (HCO-40、400 g) をDMSOに混合溶解し、被験物質濃度として500 mg/Lの原液 (2.0 L) を調製した。
- (2) 第2濃度区 : 被験物質 (0.10 g : 純度換算値) 及び分散剤 (HCO-40、400 g) をDMSOに混合溶解し、被験物質濃度として50 mg/Lの原液 (2.0 L) を調製した。
- (3) コントロール区 : 分散剤 (HCO-40、400 g) をDMSOに溶解し、被験物質を含まない原液 (2.0 L) とした。

以上を2.0 L容のガラス製容器より各試験水槽に供給した。  
原液は1回/週の頻度で調製し、交換した。

### 12.5 試験濃度

- 96時間LC50値及び被験物質の分析感度を考慮して、
- |       |             |
|-------|-------------|
| 第1濃度区 | 0.050 mg/L  |
| 第2濃度区 | 0.0050 mg/L |
- に被験物質濃度を設定した。  
同時に空試験としてコントロール区を設定した。

### 12.6 試験水及び魚体中の被験物質分析

#### 12.6.1 分析回数

試験水中の被験物質分析は、第1、第2濃度区とも、2回/週の頻度で各1点ずつ行った。

魚体中の被験物質分析は、第1、第2濃度区は、ばく露開始4、7、14、21及び28日後に各4尾ずつ採取し、各2尾ずつまとめて分析した。

コントロール区については、ばく露開始1日前及びばく露終了1日後に各4尾ずつ採取し、各2尾ずつまとめて分析した。(ただし、ばく露開始1日前は順化槽より採取した。)

( 試験番号 : ...0.1.7.3.C... )

## 12.6.2 分析試料の前処理

### (1) 試験水

試験水槽より

第1濃度区 : 40.0 ml

第2濃度区 : 400 ml

を採取し、以下のフロースキームに従って前処理操作を行った。

#### フロースキーム

試験水

固相抽出 : MEGA BOND ELUT C8(1g)[ハリアン]

[予め、テトラヒト\*ロフラン 10ml、水 10mlで洗浄]  
・ 洗浄 [テトラヒト\*ロフラン/水(50/50、v/v) 10ml] (廃棄)

溶出 : アセトニトリル/テトラヒト\*ロフラン(50/50、v/v) 20ml

濃縮・乾固 : エバポレーター、45℃以下

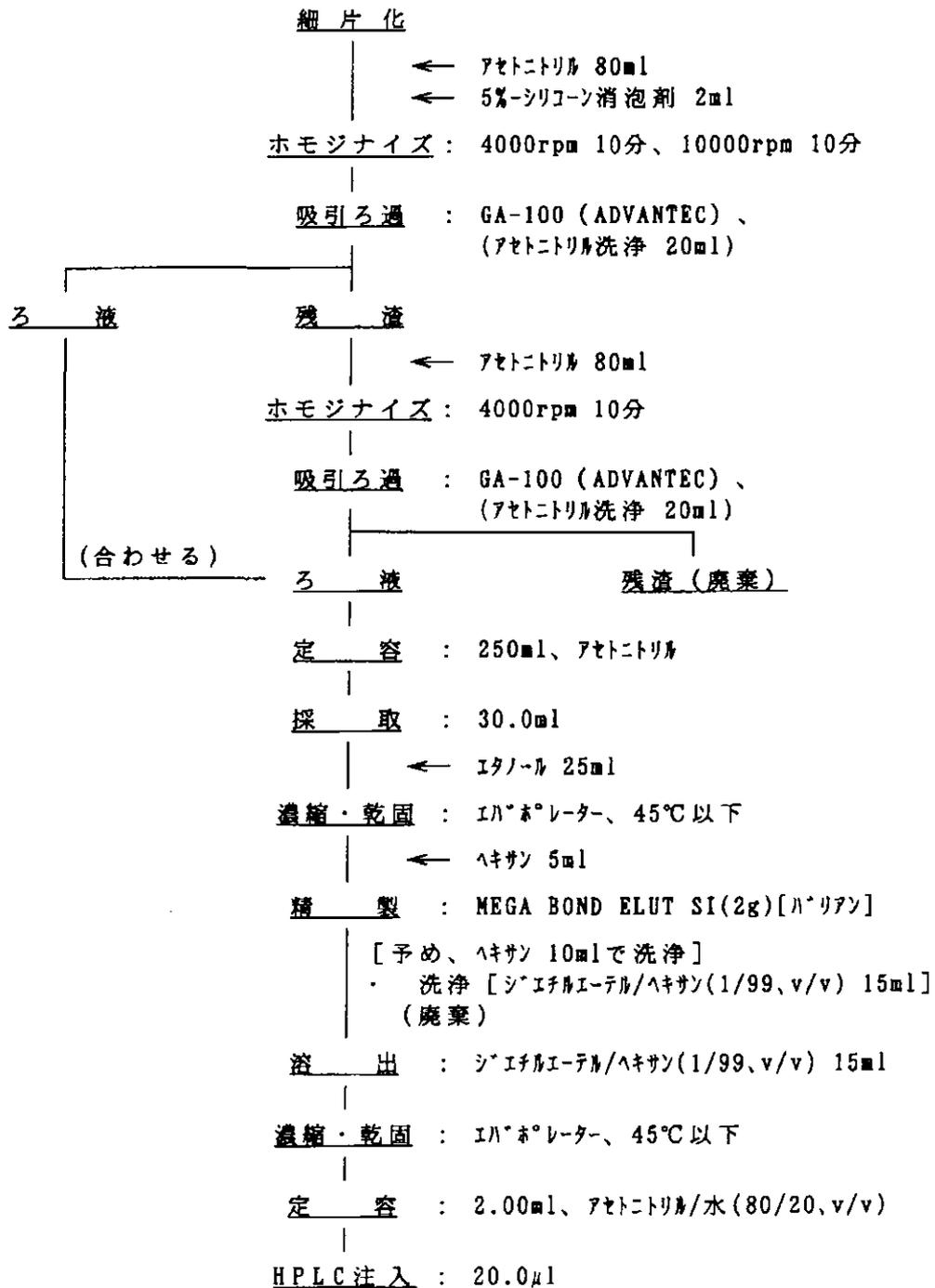
定容 : 2.00ml、アセトニトリル/水(80/20、v/v)

HPLC注入 : 20.0μl

(2) 魚 体

試験水槽より供試魚を採取し、以下のフロースキームに従って前処理操作を行った。

フロースキーム



### 12.6.3 被験物質の定量分析

12.6.2記載の前処理方法に従って得られた試料を、下記の測定条件に従い被験物質の定量分析を行った。被験物質濃度は、クロマトグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた。

また、1試料の分析は2回実施し、その平均値を計算に用いた。

定量分析には、下記の1000mg/Lの標準溶液をアセトニトリルで希釈して、50.0mg/L溶液を調製し、この溶液をアセトニトリル/水(80/20,v/v)の混合溶媒で希釈して、1.00mg/Lとしたものを用いた。

水槽中の被験物質濃度は表-3の計算式に従い、魚体中の被験物質濃度は表-8の計算式に従って計算した。計算結果は有効数字3桁に丸めて表記した。

(表-2、図-8、表-5、6、7、図-10、11参照)

#### (1) 測定条件

機 器 : 日立高速液体クロマトグラフ  
ポンプ 送液ユニット L-7100①  
検出器 紫外可視検出器 L-7420①  
カラム : Develosil ODS-HG-5、4.6mmφ × 150mm  
溶 離 液 : アセトニトリル/りん酸緩衝液\*2 = 80/20(v/v)  
流 速 : 1.0 ml/min  
カラム温度 : 45 °C  
測定波長 : 220 nm  
感 度 : 0.1 AUFS (出力電圧 : 10mV)  
注 入 量 : 20.0 μl  
データ処理装置 : 島津クロマトパック C-R5A (No.⑤)  
〈設定条件〉 WIDTH 5、 SLOPE 70、 MIN.AREA 350、  
ATTEN 1、 STOP.TM 7、 SPEED 2、  
LOCK 3.5

\*2りん酸緩衝液 : 10mM-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>水溶液をりん酸でpH=3に調整したもの。

#### (2) 被験物質標準溶液の調製

分析試料中の被験物質量を求めるための標準溶液調製は、以下のように行った。

被験物質0.1gを精秤し、アセトニトリルに溶解して1000mg/Lの溶液を調製した。

この溶液を、アセトニトリルで希釈して、50.0mg/L溶液を調製した。

50.0mg/L溶液をアセトニトリル/水(80/20,v/v)の混合溶媒で順次希釈して、0.100及び3.00mg/Lの希釈溶液を調製し、最小検出濃度及び検量線作成範囲を求めるための溶液とした。

#### (3) 検量線の作成

上記の希釈溶液(50.0mg/L)をアセトニトリル/水(80/20,v/v)の混合溶媒で適宜希釈して、0.100、0.500、1.00、2.00及び3.00mg/Lの検量線作成用溶液を調製した。

この検量線作成用溶液を(1)の測定条件に従ってHPLCにそれぞれ注入し、得られたクロマトグラムからピーク面積と注入溶液濃度より検量線を作成した。

(図-4、5参照)

#### 12.6.4 ブランク試験及び添加回収試験

##### (1) 試験水

順化槽の中の水を用い、12.6.2及び12.6.3の操作に準じてブランク試験を行った。

また、順化槽の中の水を用い、被験物質を添加した後に、12.6.2及び12.6.3の操作に準じて添加回収試験を行った。

ブランク試験及び添加回収試験は、各2点について測定した。

その結果、ブランク試験においてクロマトグラム上、被験物質の定量を妨害するようなピークは認められなかった。

また、回収率及び平均回収率は以下に示すとおりであり、試験水中の被験物質量の測定値は平均回収率で補正した。

計算方法は、表-3のとおりである。

(表-1、図-7参照)

##### 試験水分析における回収率及び平均回収率

- ① 第1濃度区 (0.0478 mg/L相当添加) :  
84.8%、85.9% 平均 85.4%
- ② 第2濃度区 (0.00498 mg/L相当添加) :  
88.4%、93.0% 平均 90.7%

##### (2) 魚体

順化槽の中のコイを用い、12.6.2及び12.6.3の操作に準じてブランク試験を行った。

また、順化槽の中のコイを用い、被験物質を添加した後に、12.6.2及び12.6.3の操作に準じて添加回収試験を行った。

ブランク試験及び添加回収試験は、各2点について測定した。

その結果、ブランク試験においてクロマトグラム上、被験物質の定量を妨害するようなピークは認められなかった。

また、回収率及び平均回収率は以下に示すとおりであり、魚体中の被験物質量の測定値は平均回収率で補正した。

計算方法は、表-8のとおりである。

(表-4、図-9参照)

##### 魚体分析における回収率及び平均回収率

- ① 被験物質 1.61 µg/g相当添加 : 94.5%
- ② 被験物質 1.55 µg/g相当添加 : 94.5%
- 平均 : 94.5%

( 試験番号 : 0.1.7.3.C )

### 12.6.5 検出限界

#### (1) 試験水

データ処理装置の最小検出ピーク面積を $350\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ に設定し、これに相当する試験水中の被験物質濃度から、被験物質の検出限界濃度を求めた。

その結果、最小検出濃度 ( $0.100\text{mg/L}$ ) より検出限界 (注1) は以下のように算出される。(図-6参照)

- ① 第1濃度区 :  $0.00585 \text{ mg/L}$
- ② 第2濃度区 :  $0.000551 \text{ mg/L}$

$$\text{(注1)} \quad \text{被験物質検出限界 (mg/L)} = \frac{A \times S}{(R' / 100) \times W}$$

A : 最小検出濃度 (mg/L)      W : 採水量 (ml)  
R' : 平均回収率 (%)      S : 最終液量 (ml)

#### (2) 魚体

(1)と同様に、最小検出濃度 ( $0.100\text{mg/L}$ ) より、魚体重を $20.0 \text{ g}$ とした場合、検出限界 (注2) は $0.0882 \mu\text{g/g}$ と算出される。(図-6参照)

$$\text{(注2)} \quad \text{被験物質検出限界 (\mu g/g)} = \frac{A \times S \times (U/T)}{(R' / 100) \times F}$$

A : 最小検出濃度 (mg/L)      S : 最終液量 (ml)  
R' : 平均回収率 (%)      T : 採取量 (ml)  
F : 魚体重量 (g)      U : 再定容量 (ml)

### 12.7 濃縮倍率 (BCF) の算出

供試魚における被験物質の濃縮倍率は、表-8の式に従って算出し、有効数字3桁に丸めて表記した。

尚、12.6.5で求めた魚体中の被験物質検出限界濃度より、下記の倍率を超えて濃縮されたとき濃縮倍率の算出が可能となる。

第1濃度区 : 1.8倍  
第2濃度区 : 18倍

### 12.8 数値の取扱い

数値を平均する場合は、平均は算術平均とした。  
数値の丸め方はJIS Z 8401-1999に従った。

### 13. 試験結果

#### 13.1 外観変化・摂餌の状態

供試魚の外観の変化、摂餌状態等を毎出勤日、目視観察した。  
その結果、特に異常は見られなかった。

#### 13.2 希釈水槽及び試験水槽中のpH

希釈水槽及び試験水槽中のpHを週2回の頻度で、pHメーターを用いて測定した。

その結果、希釈水槽中のpHは7.3～7.5の範囲内であり、第1、第2濃度区及びコントロール区のpHはそれぞれ、7.2～7.4、7.3～7.5及び7.3～7.5の範囲内であった。

#### 13.3 試験水中の被験物質濃度

試験水中の被験物質濃度の測定結果は表-2のとおりであった。  
計算方法は、表-3のとおりである。 (図-8参照)

#### 13.4 濃縮倍率

定常状態における濃縮倍率は第1及び第2濃度区でそれぞれ574倍及び658倍であった。

計算方法は、表-8のとおりである。  
(表-5、6、7、図-1、10、11参照)

#### 13.5 試験の有効性の確認

以下の項目について測定及び観測した結果、本試験の有効性が確認できた。

- (1) 試験水温 : 第1濃度区 23.7～25.2℃  
第2濃度区 23.7～25.3℃  
コントロール区 23.8～25.3℃
- (2) 溶存酸素濃度 : 12.3(6)に記載のとおり。(図-2参照)
- (3) 試験水中の被験物質濃度 : (表-2参照)  
第1濃度区 0.0475 ～ 0.0515 mg/L  
第2濃度区 0.00478 ～ 0.00518 mg/L
- (4) 供試魚の異常 : 第1濃度区、第2濃度区及びコントロール区において、死亡又は病気等の異常は見られなかった。

### 14. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

特になし。

## 15. 結果の考察及び結論

ばく露開始4、7、14、21及び28日後の測定における濃縮倍率が、第1濃度区で172～598倍、第2濃度区は530～945倍であった。

ばく露開始14、21及び28日後の測定における濃縮倍率(各2点)の平均値が、第1濃度区で546～590倍、第2濃度区は642～672倍であったので、定常状態にあると判断し、ばく露を終了した。

被験物質のコイに対する濃縮性の程度は、定常状態における濃縮倍率で第1濃度区において574倍、第2濃度区において658倍であった。

試験水分析の各測定値は、第1濃度区が0.0475～0.0515mg/L、第2濃度区は0.00478～0.00518mg/Lの範囲にあり、設定値を維持した。

試験中の供試魚の外観及び行動に異常は認められなかった。

## 16. 試資料の保管

### 16.1 被験物質

保管用被験物質約5gを保管用の容器に入れ密栓後、『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第4条に規定する試験施設について』に定める『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第4条に規定する試験施設に関する基準』第32条に定める期間、当ラボ試資料保管室に保管する。

保管期間の過ぎた被験物質は、試験委託者と協議の上処置する。

### 16.2 生データ、資料等

生データ、試験計画書、被験物質調査表、その他必要な資料等は最終報告書と共に、『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第4条に規定する試験施設について』に定める『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第4条に規定する試験施設に関する基準』第32条に定める期間、当ラボ試資料保管室に保管する。

保管期間の過ぎた生データ、資料等は、試験委託者と協議の上処置する。

## 17. 備考

## 17.1 試験に使用した主な機器、装置

## (1) 試験系(飼育施設)に係る機器、装置

流水式濃縮度試験装置	:	自社製
原液供給用定量ポンプ	:	日本精密科学製 SP-T-2501型
希釈水供給用定量ポンプ	:	山善製 QD-3CKC型
ハンディDOメーター	:	飯島電子工業製 F-103型
卓上型溶存酸素計	:	電気化学計器製 DOC-10型
pHメーター	:	横河電機製 PH82
ポケット温度計	:	横河電機製 2541-01型
パーソナル電子天秤	:	A&D製 EK-1200A型

## (2) 分析及び原液調製に使用した主な機器、装置

高速液体クロマトグラフ	:	ポンプ	日立製作所製	L-7100
		検出器	日立製作所製	L-7420
		データ処理装置	島津製作所製	C-R5A
赤外分光光度計	:	日本分光工業製	IR-810型	
pHメーター	:	横河電機製	PH82	
ロータリーエバポレーター	:	柴田科学器械製	SPC型	
ホモジナイザー	:	日本精機製	AM-8型	
		宝製作所製	CM-100型	
分析用上皿電子天秤	:	メトラ製	AE-163型	
パーソナル電子天秤	:	A&D製	EW-300A型	
		A&D製	EK-1200G型	

## 17.2 分析及び原液調製に使用した試薬等

MEGA BOND ELUT C8(1g)	:	バリアン製
MEGA BOND ELUT SI(2g)	:	バリアン製
アセトニトリル(HPLC用)	:	純正化学製
テトラヒドロフラン(HPLC用)	:	純正化学製
ジメチルスルホキシド(試薬特級)	:	和光純薬工業製
エタノール(試薬特級)	:	純正化学製
ヘキサン(試薬特級)	:	純正化学製
ジエチルエーテル(試薬特級)	:	純正化学製
分散剤(HCO-40)	:	日光ケミカルズ製
シリコーン消泡剤	:	信越化学製
りん酸(試薬特級)	:	純正化学製
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (試薬特級)	:	小宗化学製
KBr(錠剤成形用)	:	ジューエルサイエンス製
水(日本薬局方、精製水)	:	小堀製薬製